



## ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาผลของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้

กรอกหมู

(Effect of extracts from red sorrel on the nitrite residue in pork sausages)

ส.พ.  
๓๒๒๙๗  
๒๕๖๒

จัดทำโดย

นายทวีศักดิ์ อมรปิยะกฤษณ์ 46040199

นายณัฏพันธ์ พึ่งประเสริฐ 46040208

b. 11๒๗๙๖15  
i. ....

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....

5 / 4 / ๒๕๕๐ อาจารย์ที่

ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง  
 การศึกษาผลของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้  
 กรอกหมู  
 ( Effect of extracts from red sorrel on the nitrite residue in pork  
 sausages)



T096766

จัดทำโดย

นายทวิศักดิ์ อมรปิยะกฤษฎ์ 46040199

นายนันท์พันธ์ พึ่งประเสริฐ 46040208

ปพ.

ท ๒๒๙ ก

๒๕๔๙

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 96766

วัน,เดือน,ปี..... ๒๕๔๙

รายงานปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร

บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นายทวีศักดิ์ อมรปิยะกฤษณ์ นายนันท์พันธ์ พึ่งประเสริฐ . 2549 : การศึกษาผลของสารสกัดจาก  
 กระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมู ( Effect of extracts from red sorrel on the  
 nitrite residue in pork sausages) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม

### บทคัดย่อ

จากการทดลองเติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง 3 ระดับ(0 ,0.3 และ0.5 %โดย  
 น้ำหนัก) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมูที่มีปริมาณไนไตรท์ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) โดยบรรจุ  
 ในถุง PE ปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน พบว่าค่า  
 pH ของไส้กรอกหมูทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้อง  
 กับปริมาณกรดทั้งหมดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างไส้  
 กรอก โดยติดตามค่า  $a^*$  พบว่าตัวอย่างไส้กรอกที่ไม่เติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีแนวโน้มของ  
 ค่า  $a^*$  ลดลงเมื่ออายุการเก็บนานขึ้น ในขณะที่ตัวอย่างไส้กรอกที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงทั้งสอง  
 ระดับมีค่า  $a^*$  เพิ่มขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอกทุกตัวอย่าง  
 มีแนวโน้มลดลง ในระหว่างการเก็บรักษา โดยปริมาณไนไตรท์จะลดลงมากขึ้นเมื่อระดับสารสกัด  
 กระเจี๊ยบแดงที่เติมมากขึ้น จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดง มี  
 ความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมูได้

นายทวีศักดิ์ อมรปิยะกฤษณ์

.....

ลายมือชื่อนักศึกษา



.....

(ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม)

5/4/2550

...../...../.....

(วัน/เดือน/ปี)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### กิตติกรรมประกาศ

ในการทำปัญหาพิเศษเรื่องผลของสารสกัดจากกระเจียบแดงต่อปริมาณไนโตรเจนตกค้างในไส้กรอกหมู เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิตของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งในการจัดทำครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับเกียรติจาก ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรตม์ มาเป็นที่ปรึกษาปัญหาพิเศษของข้าพเจ้าและได้กรุณาสละเวลาอันมีค่า มาให้คำแนะนำ คำปรึกษาและเอาใจใส่ดูแลเป็นอย่างมาก รวมถึงการแก้ไขในส่วนที่ยังมีข้อบกพร่องอยู่ทำให้รายงานและการทำงานปัญหาพิเศษครั้งนี้สมบูรณ์มาก นอกจากนี้ก็ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและคอยเอาใจช่วยให้การทำงานปัญหาพิเศษครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ทวีศักดิ์ อมรปิยะกฤษณ์  
นนทพันธ์ พึ่งประเสริฐ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 ไม้ไผ่กรอก	2
2.2 กระเจี๊ยบแดง	2
2.3 ไนไตรท์ในเนื้อสัตว์	4
2.4 อันตรายจากการใช้ไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	4
2.5 การลดปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	5
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการทำลายไนไตรท์ของสารสกัดจากพืช	5
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	7
3.1 วัสดุอุปกรณ์	7
3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการทดลอง	8
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 การเตรียมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง	12
4.2 ผลของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณ ไนไตรท์ตกค้างใน ไม้ไผ่กรอกหมู	12
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	20
เอกสารอ้างอิง	21
ภาคผนวก	
ก. การวิเคราะห์สารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมด	22
ข. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด	24
ค. การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ในไม้ไผ่กรอก	26

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1	13
4.2	14
4.3	16
4.4	17
4.5	18

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่าง ไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน	13
4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซิตริก) ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง ที่ความเข้มข้นต่างกัน	14
4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า $a^*$ ที่ผิวด้านนอกของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติม สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน	16
4.4 การเปลี่ยนแปลงค่า $a^*$ ที่ผิวด้านในของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติม สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน	17
4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนไตรต์ตกค้างในระหว่างการเก็บรักษา ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน	19
ก1 กราฟมาตรฐานกรดเกลือสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดกระเจี๊ยบแดง	23
ค1 กราฟมาตรฐานสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรต์ตกค้าง ในไส้กรอกหมู	25

## บทที่ 1

### บทนำ

ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หลายชนิด จะมีการเติมสารประกอบไนเตรทและ หรือไนไตรท์ในส่วนผสม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* นอกจากนี้สารประกอบไนไตรท์ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยให้กลิ่นรสเฉพาะและทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีสีชมพู หรือ สีแดงที่คงตัว อย่างไรก็ตาม สารประกอบไนไตรท์สามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบเอมีน (amines) เกิดเป็นสารประกอบในกลุ่ม เอ็น-ไนโตรโซ (N – nitroso compounds) ได้แก่ เอ็น-ไนโตรซามีน (N – nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (ชัชณรงค์, 2529) ดังนั้นจึงมีกฎหมายควบคุมปริมาณสารประกอบไนเตรท ไนไตรท์ ที่อนุญาตให้ใช้ได้ ในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 พ.ศ. 2527 โดยกำหนดให้มีไนเตรทในอาหารไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไนไตรท์ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ชัชณรงค์, 2529)

การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนในกลุ่ม เอ็น-ไนโตรโซ (N – nitroso compounds) จากการทำปฏิกิริยาระหว่างไนไตรท์กับสารประกอบเอมีน สามารถเกิดได้ทั้งในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในระหว่างกระบวนการแปรรูป หรือ เกิดขึ้นได้ในทางเดินอาหารของเรา เนื่องจากการบริโภคอาหารที่มี ไนไตรท์เป็นองค์ประกอบ (เขาวลัษณ์, 2546) ดังนั้นจึงได้มีความพยายามที่จะลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่างๆ ให้ลดลงด้วยการเติมวัตถุเจือปนอาหารต่างๆ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก หรือ วิตามินซี ซึ่งพบว่าสามารถช่วยลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้ (เขาวลัษณ์, 2546) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชชนิดต่างๆ มีสมบัติในการทำลายสารประกอบไนไตรท์ได้ดี (John and Marchal, 1995) ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้จึงสนใจที่จะศึกษาผลของสารสกัดกระเจียบแดง ซึ่งมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกสูง (เขาวลัษณ์, 2546) ต่อการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหมู ข้อมูลที่ได้จะสามารถใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้สารสกัดจากพืชในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ต่อไป

#### 1.1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากกระเจียบแดงต่อคุณภาพทางกายภาพและเคมีบางประการของไส้กรอกหมู

2. ศึกษาผลของการเติมสารสกัดจากกระเจียบแดงต่อปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและวารสารปริทัศน์

#### 2.1 ใ้กรอก

ผลิตภัณฑ์ใ้กรอก ใ้กรอกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเนื้อมาบดหรือสับให้ละเอียด ผสมเกลือ เครื่องเทศ และเครื่องปรุงอื่น ๆ บรรจุในใ้กรอกหรือแบบพิมพ์ ความแตกต่างของใ้กรอกขึ้นอยู่กับชนิดของส่วนผสมหรือเครื่องเทศที่ใช้ สัดส่วนของเนื้อและไขมัน ชนิดของเนื้อ ขนาดหรือชนิดของใ้และวิธีการทำใ้กรอก (จินตนา,2529)

แบ่งตามลักษณะกรรมวิธีการผลิต ได้ 4 ประเภท ดังนี้

- 1) ใ้กรอกรมควัน เป็นใ้กรอกที่ใช้เนื้อมัด ผสมเครื่องปรุงบรรจุในใ้ และผ่านการรมควันเพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสดี และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น
- 2) ใ้กรอกสุก เป็นใ้กรอกที่ใช้เนื้อมัด ผสมเครื่องปรุงในใ้ และทำให้สุกพร้อมที่จะรับประทานได้ทันที และไม่ผ่านการรมควัน
- 3) ใ้กรอกหมักแห้ง เป็นใ้กรอกที่ต้องผ่านขั้นตอนการหมักให้มีรสเปรี้ยวก่อนทำให้แห้ง เก็บได้นานในสภาพที่เย็น อากาศแห้ง และมีความชื้นต่ำ
- 4) ใ้กรอกสด เป็นใ้กรอกที่ทำจากเนื้อสด บดและผสมเครื่องปรุง บรรจุในใ้มัดเป็นปล้องๆ และเก็บไว้ในตู้เย็นหรือตู้แช่แข็ง เมื่อรับประทานก็นำมาทำให้สุก ใ้กรอกชนิดนี้ถ้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม จะเน่าเสียได้ง่าย

แบ่งตามลักษณะเนื้อสัมผัส ได้ 2 ประเภท ดังนี้

- 1) ใ้กรอกบดหยาบ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เนื้อถูกบดด้วยเครื่องบดธรรมดาแต่ยังมองเห็นชิ้นเนื้อในผลิตภัณฑ์
- 2) ใ้กรอกบดละเอียด เป็นผลิตภัณฑ์ที่เนื้อถูกบดด้วยเครื่องบดละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกันมีลักษณะเหนียว

#### 2.2 กระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดง เป็นพืชล้มลุกที่ปลูกได้ทั่วไปในประเทศที่อยู่เขตร้อน โดยมีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* Linn อยู่ในตระกูลของ MALVACEAE มีชื่อภาษาอังกฤษว่า red sorrel กระเจี๊ยบแดงเริ่มรู้จักและนำมาใช้ประโยชน์ทางอาหารและเภสัชตั้งแต่ปีค.ศ. 1658 ประโยชน์ทางอาหารของกระเจี๊ยบแดงส่วนใหญ่นำมาประกอบอาหารเช่นทำเครื่องดืม แยม เบลลี่ ซอสไวน์ และใช้เป็นสีผสมอาหาร สำหรับประโยชน์ทางการแพทย์และเภสัชกระเจี๊ยบแดงสามารถใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ เช่น ความดันโลหิตสูงและมะเร็ง เป็นต้น จากรายงานเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ Lee และคณะ (2002) พบว่ากรดโปรโตแคทีชีวอิก (protocatechic , PCA ) ที่สกัดได้จากกระเจี๊ยบแดงมีสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยกรดชนิดนี้จะทำหน้าที่จับกับโลหะไอออนเช่น  $\text{Cu}^{2+}$  ซึ่งโลหะไอออนนี้มีผลไปกระตุ้นไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein ) ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นเมื่อขาด  $\text{Cu}^{2+}$  ที่เป็นสารกระตุ้นทำให้เกิดโรคหัวใจลดลงด้วย และจากการศึกษาในระบบจำลองของ Chewonarin และคณะ(1999) พบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยเอทานอล 80% มีผลยับยั้งการกลายพันธุ์ในเชื้อ *Salmonella typhimurium* ได้ถึง 60-90% และสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงยังมีผลเป็นสารต้านมะเร็งธรรมชาติ (natural chemopreventive) ด้วยโดยทางการแพทย์จะใช้เป็นสารยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงยังมีสมบัติทำลายเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้จากการศึกษาของ EL-Shayeb และ Mabrouk (1984) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงสามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ได้และยังมีผลยับยั้งการก่อตัวของสารอะฟลาทอกซินได้ 42-85% นอกจากการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราแล้ว สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงยังมีผลทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกหลายชนิด เช่น *E.coli* , *Pasteurella multocida* , *Streptococcus* , *Proteus vulgaris* และ *Pyocyanus* (Mishra *et al.*, 1999)

องค์ประกอบของกระเจี๊ยบแดงส่วนใหญ่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส กรดซัคซินิก (succinic acid) และกรดออกซาลิก (oxalic acid) เนื่องจากมีกรดเป็นองค์ประกอบหลายชนิดทำให้กระเจี๊ยบแดงมีพีเอชอยู่ระหว่าง 2-3 ซึ่งมีผลให้กระเจี๊ยบแดงมีรสชาติเปรี้ยว สีแดงของกลีบกระเจี๊ยบประกอบด้วยรงควัตถุที่จัดอยู่ในกลุ่มของเฟลโวนอยด์ รงควัตถุนี้มีชื่อว่า แอนโธไซยานิน นิยมใช้เป็นสารให้สีแดงในแยม เยลลี่ และเครื่องดื่มน้ำผลไม้ แอนโธไซยานินในกระเจี๊ยบแดงประกอบด้วย เดลฟินิดิน-3-แซมบูไบโอไซด์ (delphinidin-3-sambubioside) เป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีม่วงแดงในกระเจี๊ยบแดง โดยมีปริมาณมากที่สุด รงควัตถุที่พบรองลงมาคือ ไซยานิน-3-แซมบูไบโอไซด์ (cyaniding-3-sambubioside) โดยอัตราส่วนของรงควัตถุทั้งสองชนิดในกระเจี๊ยบแดงเป็นร้อยละ 70.9:29.1 ของปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด จากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดในกระเจี๊ยบแดงพบว่าใน 100 กรัมของกระเจี๊ยบแดงแห้ง จะมีแอนโธไซยานินอยู่ 1.5 กรัม (ในรูปของน้ำหนักแห้ง) ซึ่งแอนโธไซยานินที่วิเคราะห์ได้นี้แสดงอยู่ในรูปของ เดลฟินิดิน-3-กลูโคไซด์ (delphinidin-3-glucoside) (Bridle and Timberlake, 1997) แอนโธไซยานินมีสมบัติละลายน้ำได้ดีในน้ำ อะซิโตน และแอลกอฮอล์ ไม่ละลายในปิโตรเลียมอีเทอร์ และเบนซีน สีของแอนโธไซยานินสามารถเปลี่ยนแปลงไปตามความเป็นกรด-ด่าง คือในสภาพที่เป็นกรดจะให้สีแดงเข้ม ในสภาพที่เป็นกลางจะให้สีขาแดง และในสภาพที่เป็นด่างจะให้สีเขียวคล้ำจนถึงสีขาแก่ เนื่องจากสีของแอนโธไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงมีสีสั่นสวยงาม จึงนิยมใช้เป็นสีผสมอาหารธรรมชาติซึ่งสามารถใช้แทนสีผสมอาหารชนิดสังเคราะห์ได้ดี และสมบัติอีกอย่างหนึ่งของแอนโธไซยานิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกระเจียบแดงคือเป็นสารต้านปฏิกริยาออกซิเดชัน ซึ่งปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พบว่าแอนไซไซยานินมีส่วนช่วยทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองได้เป็นอย่างดี (Tee *et al.*, 2002; Duh and Yen, 1997; Tseng *et al.*, 1997) ดังนั้นจึงทำให้แอนไซไซยานินมีความสำคัญในแง่อื่นๆ มากขึ้นนอกจากใช้เป็นสีผสมอาหาร

### 2.3 ไนโตรทในเนื้อสัตว์

ไนเตรทและไนไตรท์ (nitrate and nitrite) มีการใช้อย่างกว้างขวางในการแปรรูป และการรักษาคุณภาพเนื้อสัตว์ การเติมสารประกอบไนเตรทและ หรือไนไตรท์ในส่วนผสม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะ *Clostridium botulinum* นอกจากนี้สารประกอบไนไตรท์ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยให้กลิ่นรสเฉพาะและทำให้เกิดกลิ่นที่เนื้อสัตว์มีสีแดงชมพูหรือสีแดงที่คงตัว ( ชัยณรงค์, 2529 ) สารประกอบไนไตรท์สามารถทำปฏิกริยากับสารประกอบเอมีน (amines) เกิดเป็นสารประกอบในกลุ่ม เอ็น-ไนโตรโซ ( N - nitroso compounds ) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง สามารถเกิดได้ทั้งในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ในระหว่างกระบวนการแปรรูป หรือ เกิดขึ้นได้ในทางเดินอาหารของเรา เนื่องจากการบริโภคอาหารที่มีไนไตรท์เป็นองค์ประกอบ ( ชัยณรงค์, 2529 ) ร่างกายคนปกติสามารถดูดซึม ไนเตรทและไนไตรท์จากระบบทางเดินอาหารอย่างรวดเร็ว ไนเตรทที่ถูกดูดซึมจะขับถ่ายออกมาอย่างรวดเร็ว ไนเตรทที่ถูกดูดซึมดังกล่าวจะทำปฏิกริยากับฮีโมโกลบิน เกิดเมทฮีโมโกลบิน (methaemoglobin) ซึ่งในผู้ใหญ่จะเปลี่ยนไปเป็น ออกซี-ฮีโมโกลบิน โดย reducing systems เช่น NADH - methaemoglobin reductase ในเด็กอายุไม่เกิน 3 เดือน และสัตว์ที่มีอายุน้อยๆ ระบบการทำงานของเอ็นไซม์ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ ดังนั้นเมทฮีโมโกลบิน จะเพิ่มมากขึ้น มีผลให้เกิดโรค methaemoglobinaemia

### 2.4 อันตรายจากการใช้ไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (จินตนา,2529)

อันตรายทางตรง การบริโภคไนไตรท์มากกว่า 4 กรัมต่อวัน ในผู้ใหญ่อาจทำให้มีอาการอาเจียน และอุจจาระเป็นเลือดเนื่องจากเกิดการระคายเคืองต่อกระเพาะอาหาร ถ้าใส่ และเยื่อทางเดินอาหาร ในเด็กทำให้เกิดโรคเมทฮีโมโกลบินีเมีย(methemoglobinemia)โดยไนไตรท์รวมตัวกับฮีโมโกลบินเกิดเป็นเมท-ฮีโมโกลบินทำให้ร่างกายขาดออกซิเจน ผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินแกมเทา โดยเริ่มจากริมฝีปาก นิ้วมือ นิ้วเท้า หน้าและลำตัว ถ้ามีอาการมากจะสามารถเสียชีวิตได้ การบริโภคไนไตรท์มากกว่า 8 กรัมต่อวัน สามารถทำให้เสียชีวิตได้อย่างเฉียบพลัน

อันตรายทางอ้อม ไนไตรท์ทำปฏิกริยากับเอมีนเกิดเป็นสารประกอบไนโตรซามีนที่มีฤทธิ์เป็นสารก่อมะเร็ง ในมนุษย์และสัตว์ สารประกอบไนโตรซามีนที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อ คือไนโตรไดเมทิลลามีน(nitrosodimethylamine), ไนโตรโซพิเพอริดีน(nitrosopiperidine), ไนโตรโซไพร์โรลิดีน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(nitrosopyrrolidine) ส่วนใหญ่ใน ไตรโซโดเมทิลลามีน(nitrosodimethylamine) จะพบในผลิตภัณฑ์เนื้อ และใน ไตรโซไพร์โรลิดีน(nitrosopyrrolidine) จะพบในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันสูง เช่น เบคอน

## 2.5 การลดปริมาณไนโตรที่ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

ประเทศไทยอนุญาตให้ใช้โซเดียม หรือโพแทสเซียมไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในรูปโซเดียม หรือโพแทสเซียมไนเตรดไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2527) โซเดียมไนไตรท์มีสูตรทางเคมีคือ  $\text{NaNO}_2$  มีน้ำหนักโมเลกุล 69.0 มีลักษณะผลึกสีขาวเหลือง ไวต่อความชื้น สามารถละลายได้ดีในน้ำและละลายได้เล็กน้อยในแอลกอฮอล์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีการใช้ไนไตรท์อย่างแพร่หลาย เพราะไนไตรท์ให้สมบัติที่ต้องการมากมายในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ คือ เป็นสารป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ป้องกันการเกิดกลิ่นหืนเนื่องปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดสีในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ แต่การใช้ไนไตรท์มากเกินไปอาจเกิดอันตรายแก่ร่างกาย ปัจจุบันยังไม่มีสารใด ๆ ที่มีคุณสมบัติสามารถใช้แทนไนไตรท์ แต่ได้มีแนวทางในการลดปริมาณไนไตรท์ 2 แนวทาง คือ การใช้ไนไตรท์ร่วมกับสารรีดิวซิงเช่น กรดแอสคอร์บิก อีริธอร์บิก และโทโคฟีรอล สามารถยับยั้งการเกิดไนโตรโซโดเมทิลลามีน และ ไนโตรโซโดเอทิลลามีน ส่วนโทโคฟีรอล สามารถยับยั้งการเกิดไนโตรไพร์โรลิดีน หรือลดปริมาณการใช้ไนไตรท์ร่วมกับการใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารให้สี เช่น เบทานีน เบต้าแคโรทีน และเล็ค การลดปริมาณไนไตรท์อาจจำเป็นต้องใช้สารป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น บีเอชเอ (จินตนา, 2529)

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติการทำลายไนไตรท์ของสารสกัดจากพืชและวัตถุดิบบางชนิด

Kang และคณะ(2006) ได้ศึกษาเพื่อดูความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ของสารสกัดจากเปลือกพืชตระกูลส้ม พบว่าเปลือกพืชตระกูลส้มที่ระดับความเป็นกรดต่างที่แตกต่างกัน คือที่ pH 1.2 , 4.2 และ 6.0 จะมีความสามารถในการลดปริมาณไนไตรท์ได้ 55% , 8% และ 4% ตามลำดับ นอกนี้ยังมีรายงานว่าที่ค่าความเป็นกรดต่ำ สารประกอบฟีนอลิกจะสามารถทำงานได้ดีกว่า

Fernandez – Gines และคณะ (2004) ได้ศึกษาเพื่อดูผลของการเติมของ Lemon Albedo ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันลงในไส้กรอกบาโลนา จากงานวิจัยพบว่านอกจากการเติม Lemon Albedo ลงในไส้กรอกบาโลนาจะช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารแล้ว ยังสามารถเกิดชีวปฏิกิริยา ซึ่งส่งผลต่อการลดปริมาณไนไตรท์ที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก โดยพบว่าการใช้ Lemon Albedo ที่ระดับความเข้มข้น 2.5% - 5% จะให้ผลดีในการลดปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pourazrang และคณะ(2002) ได้ศึกษาผลของการใช้วิตามินซี (L – ascorbic acid ) และวิตามินอี ต่อการยับยั้งการเกิดสารประกอบ เอ็น – ไนโตรโซ ในตัวอย่างไส้กรอก พบว่า วิตามินซี มีผลต่อการลดการเกิดสารประกอบเอ็น – ไนโตรโซ และจะมีประสิทธิภาพดีเมื่อใช้ร่วมกับวิตามินอี โดยวิตามินอีจะมีหน้าที่ไปช่วยส่งเสริมการทำงานของวิตามินซี แต่พบว่าการใช้วิตามินอีเพียงอย่างเดียวจะไม่มีผลต่อการลดการเกิดสารประกอบเอ็น – ไนโตรโซ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

#### วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 3.1 อุปกรณ์ในการทดลอง

##### 1. อุปกรณ์เตรียมสารสกัด

- เครื่องระเหยสุญญากาศ Rotavapor BOUCHI B - 114
- ปัมสุญญากาศ Vacuum system BUCHI B – 169
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ Water bath BUCHI B – 480
- เครื่องทำความเย็น Cooling รุ่น CBD 1
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด Metter AE 3000
- เครื่องบดหยาบ Blender MX – T 100N

##### 2. อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ผลทางเคมี

- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง Spectrophotometer 22
- เครื่องวัด pH WTW / Inolab Level 1
- เครื่องวัดสี Minolia CR – 300

##### 3. อุปกรณ์ในการทำไส้กรอก

- เครื่องบดเนื้อ US Berkel
- เครื่องบรรจุไส้ Poussoir couper R 201
- เครื่องบรรจุสุญญากาศ Sammic S.A.
- เครื่องสับผสม
- ตู้อบลมร้อน (try dryer)

#### 3.2 วัตถุดิบ

- 1) กระเจี๊ยบแดง ( Red sorrel ) ยี่ห้อเทศ ไก่โลดัส จากเทศ ไก่โลดัส สาขา พระรามที่ 1
- 2) วัตถุดิบที่ใช้ทำไส้กรอก
  - เนื้อหมูส่วนสะโพกจากตลาดบางกะปิ กรุงเทพ
  - มันหมูแข็งจากตลาดบางกะปิ
  - พริกไทย
  - กระเทียม
  - อบเชย
  - ลูกจันทน์
  - ลูกผักชี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สารฟอสเฟต
- น้ำแข็ง
- โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองผง
- ไข่ขาวผง
- น้ำมันพืช
- กลิ่นควิน
- ไข่เทียม
- โซเดียมไนไตรท์

### 3) สารเคมี

- เอทิลแอลกอฮอล์ 95 %
- กรดแกลลิก
- Folin – Ciocalieiu
- โซเดียมคาร์บอเนต( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- N-(1-naphthyl) ethylenediamine.2HCl (NED reagent)
- Sulfanilamide reagent

### 3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

#### 3.3.1 การเตรียมสารสกัดกระเจียบแดง

นำกระเจียบแดงแห้งซึ่งน้ำหนัก 100 กรัม ปั่นผสมกับเอทานอล 95 % ปริมาตร 1 ลิตร โดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นถ่ายใส่บีกเกอร์ทรงสูงแล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยคนทุกๆ 10 นาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 โดยใช้กรวยกรองบุชเนอร์ นำสารละลายที่ได้ นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกให้หมด โดยใช้ เครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ - 18 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

#### 3.3.2 การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะใช้วิธีรายงานโดยประพันธ์ และ วันทนี (2545) โดยที่สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดจะทำปฏิกิริยากับ Folin Coicalteu เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 730 นาโนเมตร

ใช้กรดเกลือเป็นสารประกอบฟีนอลมาตรฐาน รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ก

### 3.3.3 ผลของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงต่อปริมาณไนโตรที่ตกค้างในไส้กรอกหมู

#### 3.3.3.1 การเตรียมตัวอย่างไส้กรอกหมู

การเตรียม Pre-Emulsion

ชั่งโปรตีนถั่วเหลืองสกัดผง 100 กรัม ใส่ลงในโถของเครื่องผสมแป้งค่อย ๆ เติมน้ำเย็นปริมาณ 400 กรัม ผสมให้โปรตีนกระจายตัวและดูดซับน้ำไว้จนหมดก่อน โดยใช้ไม้ตีหัวโบเสร็จแล้วเติมน้ำมันพืชปริมาณ 400 กรัม ลงในส่วนผสมพร้อมกับตีผสมตลอดเวลา ค่อย ๆ เททีละน้อยจนหมด แล้วเพิ่มความเร็วในช่วงหลังให้แรงขึ้นเพื่อให้ไขมันกระจายตัวและคงตัวดี ในส่วนผสม Pre-Emulsion ที่ได้เก็บแช่เย็นที่ 2-5 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

ส่วนผสมไส้กรอกหมู

เนื้อหมู 3000 กรัม	มันแข็ง 400 กรัม	น้ำแข็ง 900 กรัม
น้ำตาล 24 กรัม	พริกไทยป่น 12 กรัม	ไข่ขาวผง 24 กรัม
ดอกจันทร์ป่น 2.4 กรัม	อบเชย 0.9 กรัม	ฟอสเฟต 15 กรัม
ผงชูรส 7.5 กรัม	กลี้นควันผสม 12 กรัม	โซเดียมไนไตรท์ 1.5 กรัม

วิธีการทำไส้กรอกหมู

นำเนื้อหมูแช่เย็นจัดและหั่นเป็นชิ้นพอประมาณ บดละเอียด แล้วนำไปแช่เย็นจัดไว้ หั่นมันแข็งเป็นชิ้นเล็กและบดละเอียด นำเข้าแช่เย็นจัดไว้ นำเนื้อบดใส่ลงในกระทะของเครื่องสับนวด เติมเกลือและบด 1 นาที เติมน้ำแข็ง และฟอสเฟต บดต่อ 2 นาที เติมน้ำแข็งและน้ำแข็ง เกลือไนไตรท์บดต่ออีก 2 นาที เติมส่วนผสมที่เหลือและสารสกัดกระเจี๊ยบแดงแล้วบดจนเข้ากันดีเป็นมวลเหนียว บรรจุส่วนผสมใส่เครื่องบรรจุและอัดไส้เทียมมัดปล้องให้ได้ขนาดตามต้องการ นำไส้กรอกเข้าสู่อบใช้อุณหภูมิ 80- 90 องศาเซลเซียส นาน 20- 30 นาที เสร็จแล้วมาต้มในน้ำร้อน 90 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที นำมาแช่เย็นในน้ำสะอาดและบรรจุในถุง PE ผลิตแบบสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 3.3.4 การวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างไส้กรอกหมู

#### 3.3.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างใส่กรอกมา 5 กรัม บดให้ละเอียด เอามาใส่บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 20 มิลลิลิตร นำไปนึ่งเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็น นำไปกรองโดยใช้กระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 เอาสารละลายที่กรองได้นำไปปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 250 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ได้จะใช้สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

### การวิเคราะห์ปริมาณกรด

ปีเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำลงไป 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาเลิน 2-3 หยด แล้วนำไปไทเทรตกับ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติเกิดสีชมพู กำหนดหาปริมาณกรด ทั้งหมดตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรด} = \frac{N \times V \times 64 \times 100}{1000 \times \text{กรัมตัวอย่าง}}$$

$$N = \frac{\text{ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH}}{\text{ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต}}$$

$$V = \frac{\text{ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต}}{\text{ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH}}$$

$$64 = \frac{\text{มวลโมเลกุลของกรดซิตริก}}{\text{ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต}}$$

$$64 = \text{มวลโมเลกุลของกรดซิตริก}$$

### 3.3.4.2 การวัดค่า pH (ดัดแปลงจาก AOAC,1984 โดยนภา,2529)

นำตัวอย่างใส่กรอกมา 20 กรัม มาบดให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน วัดด้วยเครื่องวัด pH meter WTW / Inolab Level 1

### 3.3.4.3 การวิเคราะห์สี

วัดค่าสีของตัวอย่างใส่กรอกหุ้มทั้งส่วนผิวด้านนอกและผิวเนื้อด้านในด้วย เครื่องวัดสี Minolia CR – 300 นำตัวอย่างมาวัดค่า Hunter lab color วัดค่าสี L , a และ b โดยใช้แผ่น target mask ขนาดที่เหมาะสมกับตัวอย่างที่ต้องการวัด ในการทดลองครั้งนี้ใช้แผ่นขนาดกลาง สอบเทียบเครื่องวัดสีด้วย zero calibration Box CM-A12 และ White Calibration Plate ซึ่งตั้งค่าการวัดดังนี้

แหล่งกำเนิดแสง C (Light North Sky Daylight)

ค่ามุม 10 องศา แหล่งรวมแสงใช้ SCI (รวมแสงสะท้อน) ทำการวัดแบบหา

ค่าเฉลี่ย 10 จุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำตัวอย่างใส่กรอกทุกตัวอย่าง วางบนแผ่น target mask วัดค่า 10 จุดต่อ 1 ตัวอย่างอ่านค่าสีที่วัดได้ในระบบ L, a และ b (ค่า L คือ ค่าความสว่าง, ค่า a คือ ค่าสีแดงและค่า b คือ ค่าสีเหลือง)

#### 3.3.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในใส่กรอก

การเตรียมตัวอย่าง (ดัดแปลงจาก AOAC ,2000)

นำตัวอย่างใส่กรอกมาบดแล้วนำมาชั่ง 2.5 กรัม นำมาใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ปริมาณ 150 มิลลิลิตร นำไปนึ่งในถังถึง 2 ชั่วโมง โดยคนทุก ๆ 10 นาที นำมาทำให้เย็นโดยใช้น้ำเย็น นำมาถ่ายลงในขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเอาไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 นำสารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในใส่กรอก

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน จะใช้วิธีดัดแปลงจากวิธีรายงานโดย AOAC 2000 โดยที่สารประกอบไนโตรเจน จะทำปฏิกิริยากับ Reagent NED เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพู ซึ่งสามารถติดตามโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ใช้โซเดียมไนไตรต์เป็นสารประกอบมาตรฐานในการทำกราฟมาตรฐาน รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ดูได้จากภาคผนวก ค

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 4.1 การเตรียมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง

จากการเตรียมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง โดยนำกระเจี๊ยบแดงแห้งชั่งน้ำหนัก 100 กรัม ปั่นผสมกับเอทานอล 95 % ปริมาตร 1 ลิตร โดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นถ่ายใส่บีกเกอร์ทรงสูง แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยคนทุกๆ 10 นาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 โดยใช้กรวยกรองบุชเนอร์ นำสารละลายที่ได้ ไประเหยเอาตัวทำละลายออกให้หมด โดยใช้เครื่องระเหยสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่มีลักษณะขุ่นหนืด มีสีแดงคล้ำและมีกลิ่นเปรี้ยวของกรด

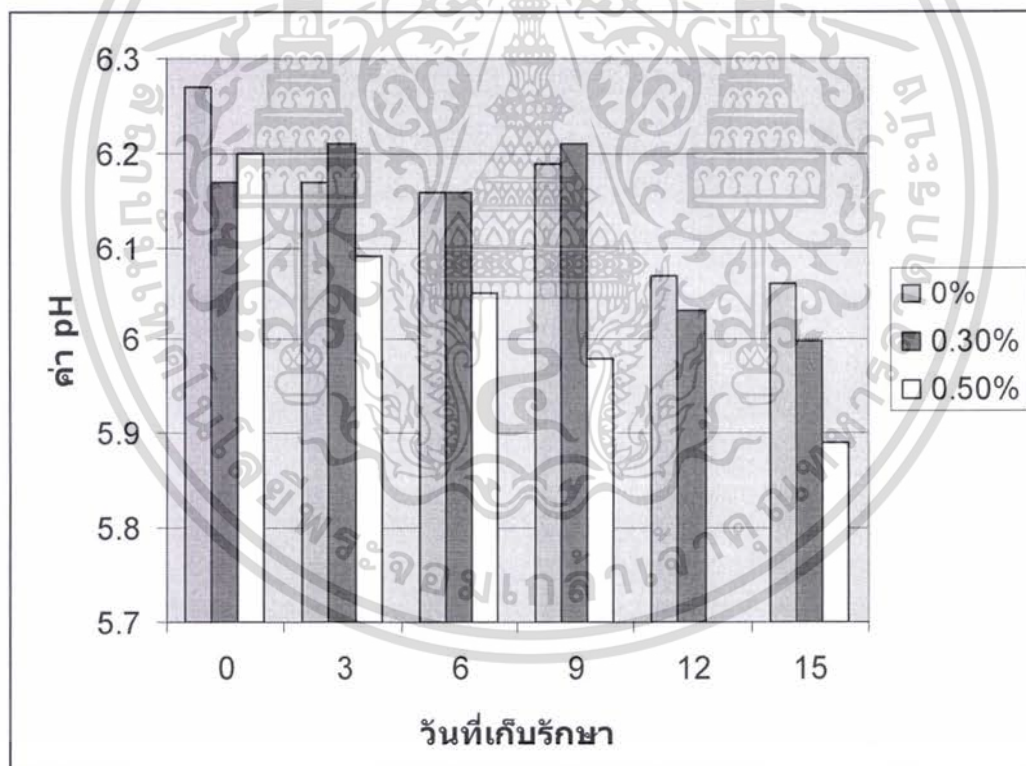
เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ได้พบว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 347 มิลลิกรัม / กรัมสารสกัด ค่า pH ของสารละลาย 20% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีค่าเท่ากับ 4.13

#### 4.2 ผลของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีกายภาพและปริมาณไนโตรเจนตกค้างในไส้กรอกหมู

จากการทดลองเตรียมไส้กรอกหมูที่มีปริมาณไนโตรเจน 500 ppm และเติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง 3 ระดับ คือ 0, 0.3, และ 0.5 % โดยน้ำหนัก บรรจุตัวอย่างไส้กรอกที่ได้ในถุง PE และปิดผนึกแบบสูญญากาศ นำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ของการเก็บรักษา มาวิเคราะห์ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด สี ( $a^*$ ) ของผิวด้านนอกและเนื้อในไส้กรอกและปริมาณไนโตรเจนตกค้าง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1- 4.5 และรูปที่ 4.1- 4.5 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่าง  
ไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

วันที่เก็บรักษา	ค่า pH ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง		
	0 %	0.3%	0.5%
0	6.27	6.17	6.20
3	6.17	6.21	6.09
6	6.16	6.16	6.05
9	6.19	6.21	5.98
12	6.07	6.03	5.17
15	6.06	6.00	5.89



รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสาร  
สกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

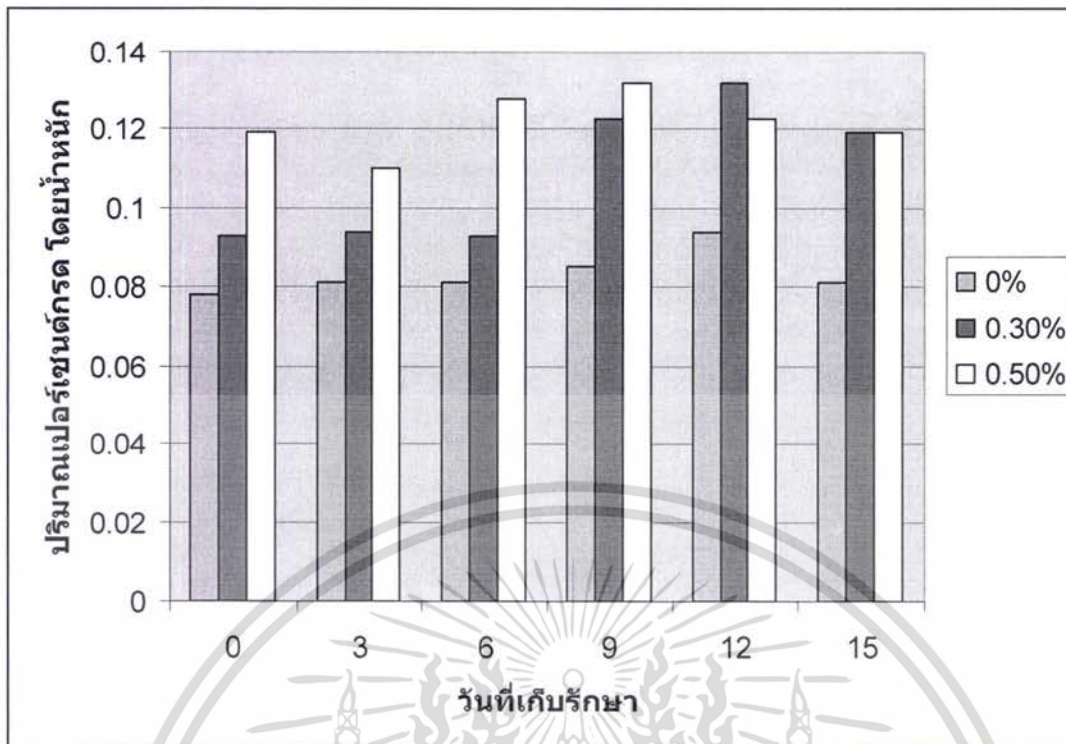
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างไส้กรอกควบคุม (สารสกัดกระเจียบแดง 0 % ) จะมี pH ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาสูงกว่าตัวอย่างไส้กรอกที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงทั้งสองระดับเล็กน้อย อย่างไรก็ตามค่า pH ของไส้กรอกหมูทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ระดับ 0, 0.3 และ 0.5 % โดยน้ำหนัก มีค่า pH ลดลงจากเริ่มต้น 6.27 , 6.17 , และ 6.20 เป็น 6.06 , 6.00 , และ 5.89 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น มีผลทำให้จุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรดได้ เช่น แบคทีเรียแลคติก เจริญมากขึ้นและผลิตกรดออกมาทำให้ pH ของตัวอย่างไส้กรอกหมูลดลง

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นครดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซิตริก)ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

วันที่เก็บรักษา	ปริมาณกรดทั้งหมด (% โดยน้ำหนักเทียบกับกรดซิตริก) ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดง		
	0%	0.3%	0.5%
0	0.078	0.093	0.119
3	0.081	0.094	0.110
6	0.081	0.093	0.128
9	0.085	0.123	0.132
12	0.094	0.132	0.123
15	0.081	0.119	0.119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



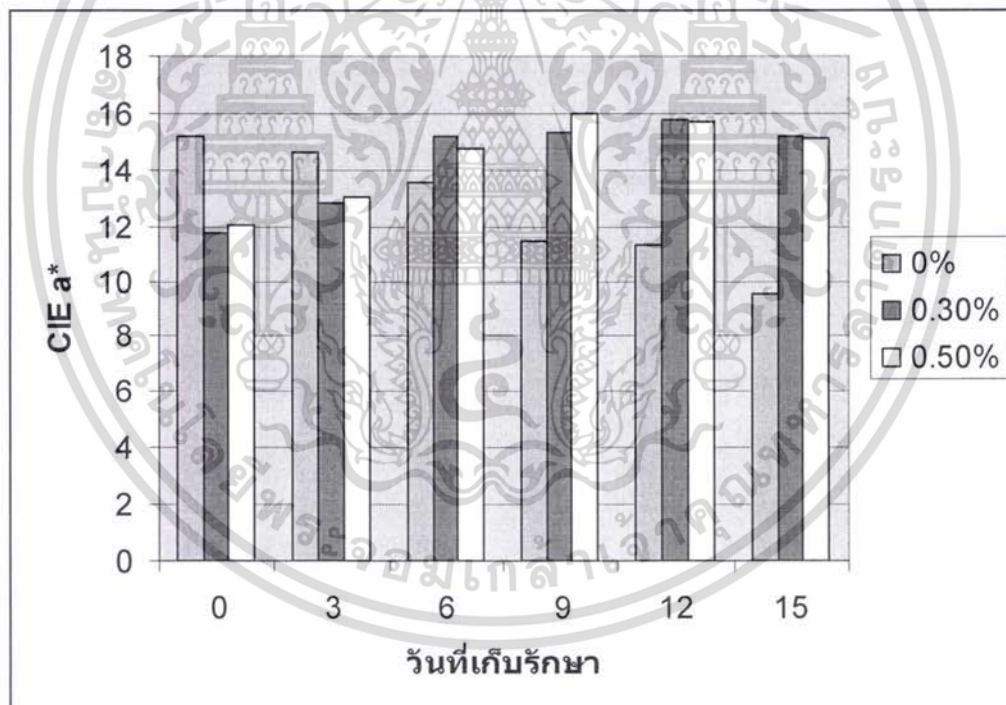
รูปที่ 4.2 เปรอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซिटริก)ของตัวอย่างไ้กรอกหมุที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างไ้กรอกหมุที่เติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น จะมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างควบคุม และเมื่อเติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมากขึ้น ปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างไ้กรอกจะสูงขึ้นด้วย ทั้งนี้เนื่องมาจากความเป็นกรดของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์ไ้กรอกหมุมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดในตัวอย่างไ้กรอกหมุทั้ง 3 ตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดในไ้กรอกหมุทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มการลดลงของค่า pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงสี (ค่า  $a^*$ ) ที่ผิวด้านนอกของตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษาไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

วันที่เก็บรักษา	ค่า $a^*$ ที่ผิวด้านนอก		
	ปริมาณสารสกัดกระเจียบแดง		
	0%	0.3%	0.5%
0	15.21	11.77	12.03
3	14.65	12.86	13.05
6	13.55	15.22	14.78
9	11.49	15.34	15.98
12	11.32	15.78	15.70
15	9.52	15.20	15.12

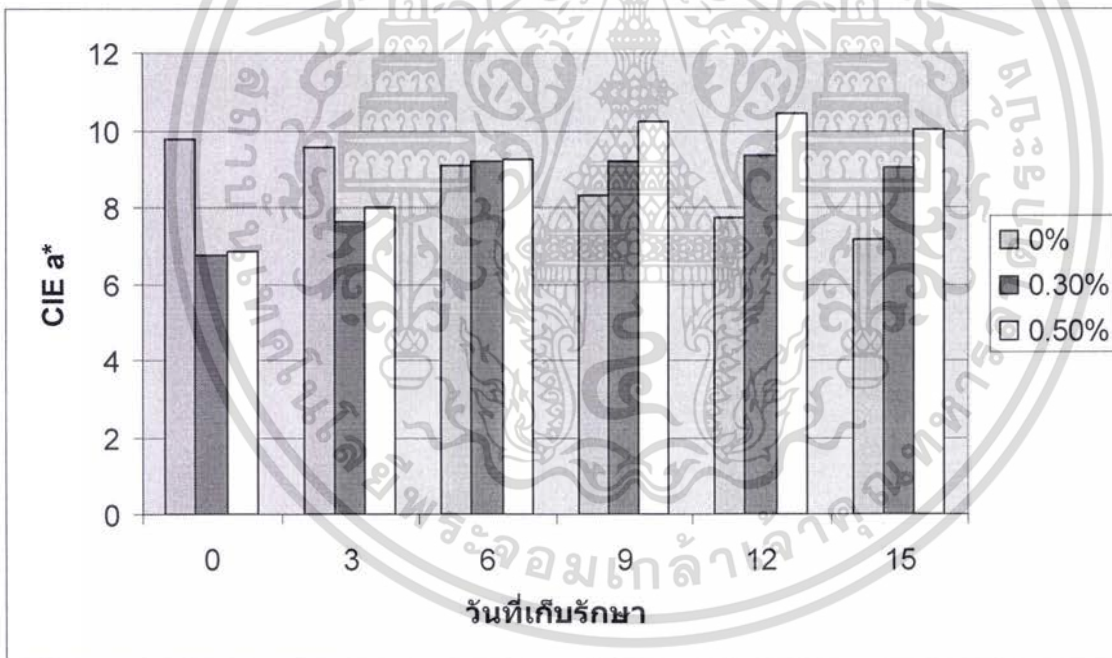


รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงสี (ค่า  $a^*$ ) ที่ผิวด้านนอกของตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษาไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงสี (ค่า  $a^*$ ) ที่ผิวด้านในของตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษา ใส่กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

วันที่เก็บรักษา	ค่า $a^*$ ที่ผิวด้านใน		
	ปริมาณสารสกัดกระเจียบแดง		
	0%	0.3%	0.5%
0	9.79	6.75	6.88
3	9.56	7.63	8.01
6	9.08	9.18	9.23
9	8.32	9.22	10.21
12	7.75	9.35	10.44
15	7.16	9.03	10.03



รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงสี (ค่า  $a^*$ ) ที่ผิวด้านในของตัวอย่าง ในระหว่างการเก็บรักษา ใส่กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

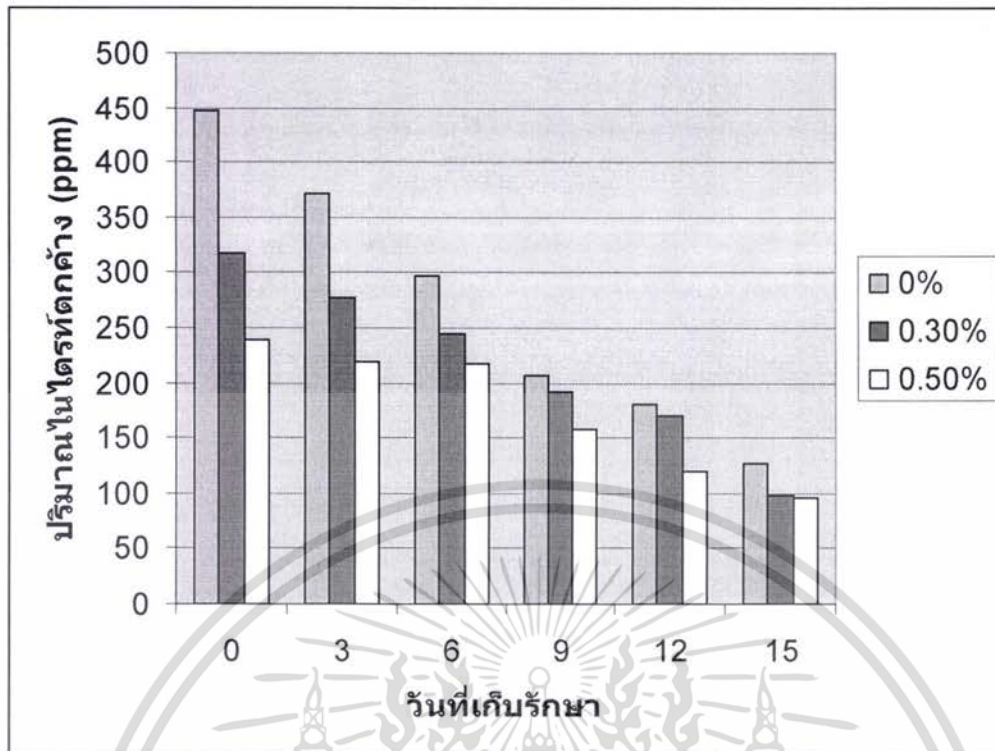
เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดง ( $a^*$ ) ในส่วนผิวด้านนอกของตัวอย่างใส่กรอกหมู ในระหว่างการเก็บรักษาดังผลการทดลองในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ชัดว่า ตัวอย่างใส่กรอกควบคุมที่เตรียมได้เริ่มต้นมีค่า  $a^*$  หรือสีแดงมากกว่าตัวอย่างใส่กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจียบแดงทั้งสองระดับ อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ตัวอย่างควบคุมจะมีเอกสารที่เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนวโน้มของค่า  $a^*$  ลดลง โดยลดลงจากเริ่มต้น 15.21 เป็น 9.52 ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการถูกทำลายของรงควัตถุสีแดงในระหว่างการเก็บรักษา สำหรับกรณีของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงทั้ง 2 ระดับนี้ พบว่าค่า  $a^*$  มีค่าใกล้เคียงกันและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น การเปลี่ยนแปลงสีแดงในส่วนของเนื้อไส้กรอกด้านในก็มีแนวโน้มเป็นในทิศทางเดียวกันกับผิวด้านนอก (ตาราง 4.4 และ รูปที่ 4.4) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีความเข้มของสีแดงเพิ่มขึ้น เมื่อเก็บรักษานานขึ้นนั้นไม่สามารถได้แน่ชัด แต่คาดว่าน่าจะเกิดจากรงควัตถุสีแดงแอนโทไซยานินที่เป็นองค์ประกอบหลักในสารสกัดกระเจี๊ยบแดง โดยทั่วไปแอนโทไซยานินจะมีสีแดงเข้มในสภาวะเป็นกรด หรือ pH ต่ำ และสีแดงของแอนโทไซยานินจะลดลงหรือเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน หรือเขียวคล้ำจนถึงสีน้ำตาล ในสภาวะที่เป็นด่าง (Bridle and Timberlake, 1997) จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 พบว่า pH ของตัวอย่างไส้กรอกมีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษา แสดงว่ามีความเป็นกรดมากขึ้นจึงส่งผลให้แอนโทไซยานินในสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีสีแดงมากขึ้น ตัวอย่างไส้กรอกที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงจึงมีค่า  $a^*$  เพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรที่ตกค้างในไส้กรอกในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

วันที่เก็บรักษา	ปริมาณไนโตรที่ตกค้างในไส้กรอก (ppm) ของตัวอย่างไส้กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง		
	0%	0.30 %	0.50 %
0	446.66	317.33	238.66
3	370.66	276.33	219.00
6	296.33	244.66	217.66
9	207.00	191.66	158.33
12	180.66	171.00	118.66
15	126.66	98.66	95.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนในดินในระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างใส่กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นต่างกัน

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าใส่กรอกทุกตัวอย่างมีปริมาณไนโตรเจนในดินลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น โดยตัวอย่างใส่กรอกควบคุม มีปริมาณไนโตรเจนในดินลดลงจากเริ่มต้น 446.66 ppm เป็น 126.66 ppm ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามตัวอย่างใส่กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในปริมาณที่เพิ่มขึ้น จะมีผลทำให้ปริมาณไนโตรเจนในดินลดลงได้มากขึ้น โดยไนโตรเจนในดินในตัวอย่างใส่กรอกหมูที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ระดับ 0.3% และ 0.5 % มีปริมาณไนโตรเจนในดินลดลงจากเริ่มต้นเท่ากับ 317.33 และ 238.66 เหลือ 98.66 และ 95.33 ppm ตามลำดับ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระเจี๊ยบแดงมีประสิทธิภาพ ในการลดปริมาณไนโตรเจนในดินใส่กรอกหมูได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเตรียมไส้กรองหุที่มีปริมาณไนไตรท์ 500 ppm และเติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง 3 ระดับ คือ 0, 0.3, และ 0.5 % โดยน้ำหนัก บรรจุตัวอย่างไส้กรองที่ได้ในถุง PE และปิดผนึกแบบสุญญากาศ นำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ของการเก็บรักษา มาวิเคราะห์ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด ซี (a\*) ของผิวด้านนอกและเนื้อในไส้กรองและปริมาณไนไตรท์ตกค้าง ซึ่งจากการทดลองพบว่า

1. ไส้กรองทุกตัวอย่างที่ระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ค่า pH มีแนวโน้มลดลงซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น และจะเห็นได้ว่าไส้กรองที่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่ระดับความเข้มข้น 0.3 % และ 0.5 % จะมีค่า pH ที่ต่ำกว่าไส้กรองที่ไม่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง
2. ผิวด้านนอกและเนื้อด้านในไส้กรองหุที่ไม่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงจะมีค่า a\* ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นและในทางกลับกันไส้กรองที่เติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงจะมีสีแดงเข้มขึ้น (ค่า a\* เพิ่มขึ้น)
3. ไส้กรองทุกตัวอย่างมีปริมาณไนไตรท์ตกค้างลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น และไส้กรองที่เติมสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณไนไตรท์ตกค้างต่ำกว่าไส้กรองที่ไม่ใส่สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง ซึ่งที่ระดับสารสกัดกระเจี๊ยบแดงสูงขึ้นไปมีผลทำให้ปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรองหุลดลงได้มากขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- จินตนา สายสิทธิ์.2529.ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์.คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
กรุงเทพฯ.
- ชัยณรงค์ คันธพนิต.2529.วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์.กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.
- นภา โล่ทอง.2529. ปฏิบัติการวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์ .2546.การใช้สารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบแดงและเมล็ดส้มเขียวหวานเป็น  
สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในหมูแผ่น.คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบัน  
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.
- AOAC. 2000. Association of Official Analytical Chemists, 17<sup>th</sup> ed. Washington, D.C. :  
Association of Official Chemist, Inc.
- Bridle, P. , Timberlake, C.F. 1997. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. Food  
Chem. 58(1-2): 103-109
- Fernandez-Gines J.M., Fernandez-Lopez J., Sayas-Barbera E., Sendra E., Perez-Alvarez J.A.  
(2004). Lemon Albedo as a new source of dietary fiber: Application to bologna sausages.  
Meat Science.67 : 7-13.
- John, P., Marchal, J.1995. Ripening and Biochemistry of fruit.*in* Banana and  
Plantains.(Gowen,S.,ed).UK: Chapman & Hall.
- Kang H.J., Chawla S.P., Jo C., Kwon J.H., Byun M.W. (2006). Studies on the delvelopment of  
Functional powder from citrus peel. Bioresource Tech. 97 :614-620.
- Lee, MJ., Chou, F.P., Tseng, T.H., Hsigh, M.H., Lin,M.C. and Wang C.J. 2002 .Hibiscus  
protocatechuic acid or esculetin can inhibit oxidative LDL induced by either copper ion  
or nitric oxide donor. J. Agric. Food Chem. 50(7):2130-2136.
- Magra T.I., Bloukas J.G., Fista G.A. (2006). Effect of frozen and dried leek on processing and  
quality characteristics of Greek traditional sausages. Meat Sci.72:280-287.
- Mishra, M., Shukla, Y.N., Jain, S.P. , Kumar, S. 1999. Chemistry and pharmacology of  
some Hibiscus spp.- a review. J. Medicinal Aromatic Plant Sci. 21(4): 1169-1186.
- Tee, P.L., Yusof, S. Mohamed. 2002 Antioxidative properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa*  
L.) in linolic acid model system. Nutr. Food Sci. 32(1):17-20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tseng, T.H., Kao, E.S. Chu, C.Y., Chou, F.P. Lin Wu, H.W., Wang, C.J. 1997. Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. *Food Chem. Toxicol.* 35(1): 1159-1164.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

## การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol contents)

## การวิเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

## 1. สารเคมี

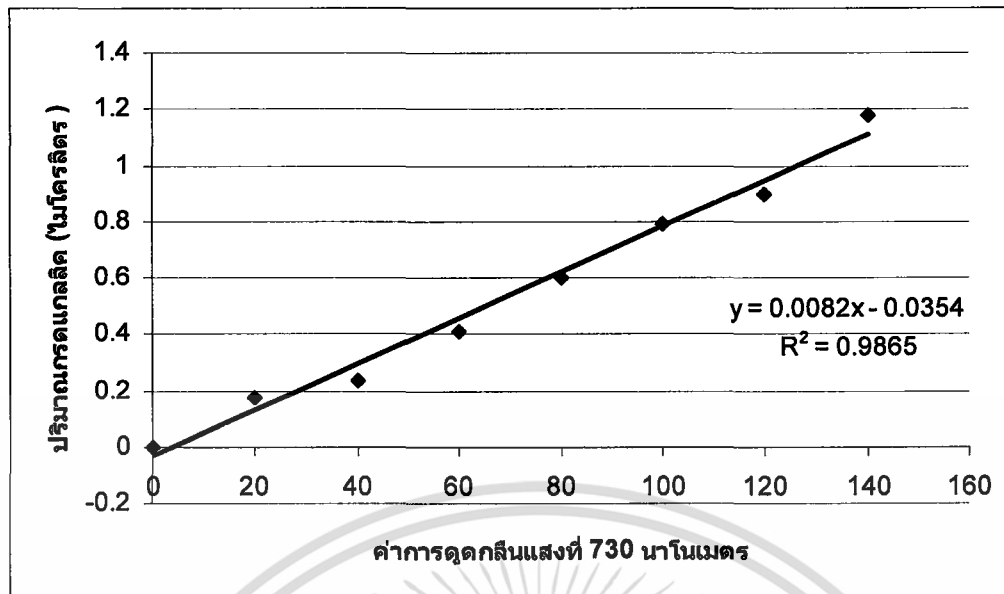
- Folin- Ciocalteu
- โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์
- สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร

## 2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

- 2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 400 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร
- 2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานดังกล่าวใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.15, 0.20, 0.3 และ 0.35 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมในแต่ละหลอดเป็น 10 มิลลิลิตร
- 2.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
- 2.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
- 2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร
- 2.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม

## 3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลในตัวอย่างสารสกัด

- 3.1 ปิเปตตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมเป็น 10 มิลลิลิตร
- 3.2 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที
- 3.3 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
- 3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank



รูปที่ ก1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบ  
โพลีฟีนอลทั้งหมดในสารสกัดกระเจี๊ยบแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

## การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (เปรียบเทียบกับกรดซิตริก)

## การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด

## 1. สารเคมี

1.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1N.

1.2 สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน

## 2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด

2.1 ชั่งตัวอย่างใส่กรอก 2.5 กรัม แล้วนำมาบดให้ละเอียด

2.2 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง นำน้ำที่กรองได้ไปต้มเพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

2.3 เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 NaOH จนกระทั่งถึงจุดยุติเกิดสีชมพู กำหนดหาปริมาณกรดทั้งหมดตามสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด} = \frac{N \times V \times 64 \times 100}{1000 \times \text{กรัมตัวอย่าง}}$$

N = ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH

V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

64 = มวลโมเลกุลของกรดซิตริก

## 2.4 ตัวอย่างการคำนวณ

กำหนดหาปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างใส่กรอก จากสูตรในข้อ 2.3 โดยนำค่าปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ใช้ในการไทเทรต ในข้อ 2.3 มาแทนค่าในสมการ โดยมีตัวอย่างการคำนวณดังนี้

จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างใส่กรอกได้ค่าสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ได้จากการไทเทรต เท่ากับ 0.3 มิลลิลิตร โดยใช้ตัวอย่างใส่กรอกปริมาณ 5 กรัม นำไปแทนค่าในสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด} = \frac{N \times V \times 64 \times 100}{1000 \times \text{กรัมตัวอย่าง}}$$

$$= \frac{0.1 \times 0.3 \times 64 \times 100}{1000 \times 5}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned}
 \text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด} &= \frac{0.1 \times 0.3 \times 64 \times 100}{1000 \times 2.5} \\
 &= 0.078
 \end{aligned}$$



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

## การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอก

## การเตรียมตัวอย่าง

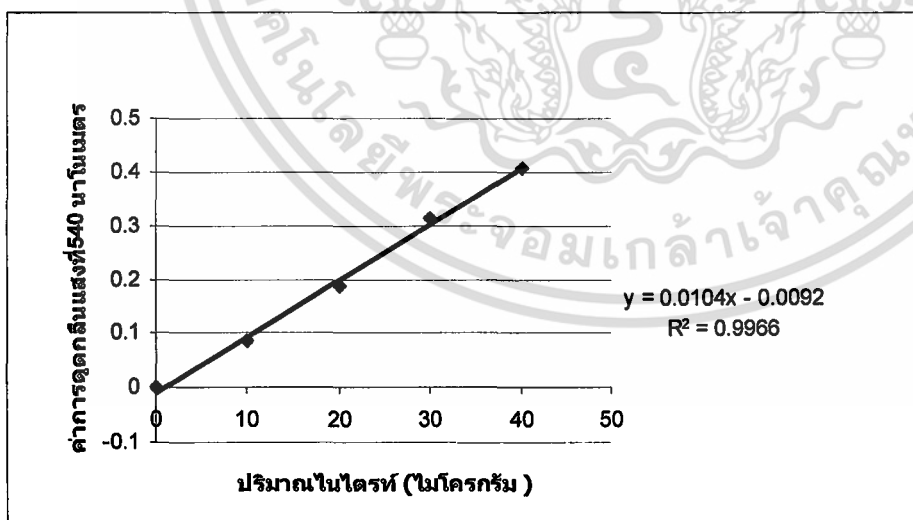
นำตัวอย่างไส้กรอกมาบดแล้วนำมาชั่ง 2.5 กรัม นำมาใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ปริมาณ 150 มิลลิลิตร นำไปนึ่งในลังถึง 2 ชั่วโมง โดยคนทุก ๆ 10 นาที นำมาทำให้เย็นโดยใช้น้ำเย็น นำมาถ่ายลงในขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเอาไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 นำสารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอก

## การเตรียมกราฟมาตรฐาน

โดยเตรียม working  $\text{NaNO}_2$  (500ppm) จากนั้นปิเปตสารละลาย  $\text{NaNO}_2$  มา 0, 1, 2, 3, 4, และ 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติม Sulfanamide หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติมนED หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

## การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่าง

นำสารละลายที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างไส้กรอก ปิเปตมา 4.0 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติม Sulfanamide หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติมนED หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร



รูปที่ ค1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ตกค้างในไส้กรอกหมู

### ตัวอย่างการคำนวณ

คำนวณปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างในตัวอย่างไส้กรอกหมู โดยนำค่าความเข้มแสงที่ได้จากการวิเคราะห์ มาคำนวณโดยใช้สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานของ  $\text{NaNO}_2$  โดยมีตัวอย่างการคำนวณดังนี้

จากการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้างในตัวอย่างไส้กรอกหมูควบคุม ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.177 เมื่อนำไปแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน คือ  $y = 0.0104x - 0.0092$  ดังนั้น ค่า  $x = 17.90$  ไมโครกรัม

เนื่องจาก ปีเปตสารละลายที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างไส้กรอกมา 4 มิลลิลิตร นั่นคือ มีปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง เท่ากับ 17.90 ไมโครกรัม

ถ้าสารละลายที่สกัดได้จากตัวอย่างไส้กรอกหมูทั้งหมด 250 มิลลิลิตร จะมีปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้าง  $(17.90 / 4) \times 250 = 1118.99$  ไมโครกรัม

โดยที่สารละลายตัวอย่างไส้กรอก 250 มิลลิลิตร นั้นมาจากไส้กรอกหมูเริ่มต้น 2.5 กรัม

ดังนั้นไส้กรอกหมู 2.5 กรัม จึงมีปริมาณไนโตรเจนที่ตกค้าง 1118.99 ไมโครกรัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 447 ไมโครกรัม / กิโลกรัม หรือ ppm นั่นเอง